

Análisis de las hormonas vegetales como método eficaz para la detección precoz de *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae)

Rhynchophorus ferrugineus (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae) es una de las plagas de palmeras más importantes en todo el mundo. La clave para el control de esta especie se basa en detectar las etapas iniciales de infestación. El principal objetivo de este estudio fue caracterizar la respuesta metabólica de *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud relacionadas con los daños provocados por las infestaciones con *R. ferrugineus*, con el fin de identificar biomarcadores para la detección precoz de esta especie. Tanto las infestaciones de *R. ferrugineus* como las heridas mecánicas ocasionadas, dieron lugar a diversos patrones hormonales en las palmeras y diferentes producciones de metabolitos secundarios. Las concentraciones de ácido salicílico y ácido caféico aumentaron en varios órdenes de magnitud 7 días después de infestar las palmeras con *R. ferrugineus*. Estos compuestos no fluctuaron en las palmeras dañadas mecánicamente. Por lo tanto, se podría considerar estas sustancias como posibles señales de alarma para la detección precoz de *R. ferrugineus*.

PALABRAS CLAVE: Picudo rojo de las palmeras, Palmera canaria, Fitohormonas, Respuestas vegetales.

Ó. Dembilio^{1,*}, B. Agut², M.V. Ibáñez-Gual³, V. Flors², M. Piquer¹, J.A. Jaques¹

¹Universitat Jaume I (UJI), Unitat Associada d'Entomologia Agrícola UJI-IVIA, Departament de Ciències Agràries i del Medi Natural, Campus del Riu Sec, Castelló de la Plana (Spain).

²UJI, Metabolic Integration and Cell Signalling Group, Departament de Ciències Agràries i del Medi Natural, Campus del Riu Sec, Castelló de la Plana (Spain).

³UJI, Departament de Matemàtiques, Institute of Mathematics and Applications, Campus del Riu Sec, Castelló de la Plana (Spain).

INTRODUCCIÓN

El picudo rojo de las palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae), es un gorgojo de palmeras originario del sudoeste asiático. Debido al movimiento no intencionado de material infestado, esta especie tiene hoy en día una amplia distribución mundial en prácticamente todas las zonas donde hay presencia de palmeras (EPPO, 2008; 2009; Rugman-Jones *et al.* 2013; Dembilio y Jaques, 2015). Como resultado, este coleóptero se ha convertido en una de las plagas de palmeras más destructivas que existen y continúa amenazando diferentes especies de palmeras de todo el mundo

(Dembilio *et al.*, 2014; Dembilio y Jaques, 2015; Jaques *et al.*, 2017). En la Unión Europea, *R. ferrugineus* es la plaga más importante de palmeras, afectando sobre todo a *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud, una palmera endémica a las Islas Canarias, utilizada como ornamental en la costa norte de la cuenca Mediterránea y otros lugares del mundo (Dembilio y Jacas, 2011). Los daños en las palmeras se inician cuando las hembras adultas ponen sus huevos en la base de las palmas, en agujeros realizados con su rostro. Posteriormente, las larvas neonatas empiezan a alimentarse inmediatamente después de la eclosión de huevos, desplazándose hacia su interior. Conforme van

mudando las larvas, éstas tienden a alimentarse de los tejidos blandos que rodean el meristemo apical hasta completar su desarrollo. A continuación, las larvas maduras migran de nuevo hacia la periferia de la corona para realizar un capullo, de donde surgirá un nuevo adulto. Este ciclo suele completarse entre 40 y 160 días, dependiendo de la especie de palmera y condiciones ambientales (Dembilio y Jacas, 2011). Al completarse una nueva generación, los adultos pueden permanecer dentro de la misma palmera y reproducirse hasta la completa destrucción del meristemo apical, con la consecuente muerte de la palmera (Dembilio y Jacas, 2011). Debido a este hábitat críptico,

la dificultad reside en detectar, de manera precoz, los primeros síntomas de infestación (Dembilio y Jaques, 2015; Dembilio *et al.*, 2009) que resulta clave para su control eficaz. Hasta la actualidad se han explorado diferentes estrategias que incluyen la detección visual, acústica, térmica y olfativa (Dembilio y Jaques, 2015; Jaques *et al.*, 2017). Sin embargo, su éxito es limitado, siendo la detección visual el sistema más comúnmente utilizado hoy en día. No obstante, cuando se detectan los primeros síntomas visuales, a menudo, es demasiado tarde para intentar recuperar la palmera (Dembilio y Jacas, 2011). En ese sentido, tratar de identificar las respuestas defensivas de las palmeras frente a un ataque de *R. ferrugineus*, podría ofrecer una herramienta de detección precoz muy útil, aunque esta situación continúa siendo poco conocida (Cangelosi *et al.*, 2015; Giovino *et al.*, 2015; Rasool *et al.*, 2015).

Los artrópodos, cuando se alimentan de las plantas, activan diferentes respuestas vegetales. Una vez la planta ha identificado un ataque, puede responder a través de la activación de diversos genes de defensa, controlados por las fitohormonas, tales como el ácido abscísico, ácido salicílico y ácido jasmónico (ABA, SA y JA, respectivamente) y el etileno (ET) (Glazebrook, 2001; Flors *et al.*, 2005; Erb *et al.*, 2012; Agut *et al.*, 2014). Recientemente, Giovino *et al.* (2015) identificaron genes clave involucrados en la respuesta innata de *P. canariensis* y que pertenecen a rutas metabólicas de la auxina, JA y SA, relacionadas con ataques de *R. ferrugineus*. Estas activaciones pueden estar relacionadas con la producción de antibióticos y compuestos antixenóticos que pueden provocar un efecto negativo sobre el desarrollo de los insectos que se alimentan de plantas (Bennett & Wallsgrove, 1994; Chen, 2008). Cangelosi *et al.*, (2015), por ejemplo, identificaron el filiferol, un compuesto que puede estar involucrado en procesos de antibiosis frente a

R. ferrugineus cuando éste ataca a la palmera *Washingtonia filifera* Wendl. (Dembilio *et al.*, 2009). Del mismo modo, Rasool *et al.*, (2015) identificaron varios péptidos acumulados en palmeras infestadas de la especie, *Phoenix dactylifera* L. Además, se identificaron algunos genes implicados en la biosíntesis de algunos compuestos sulfurados con conocidas propiedades defensivas, cuando se produjo un ataque de *R. ferrugineus* a la palmera *P. canariensis* (Giovino *et al.*, 2015). Sin embargo, esta activación se produjo demasiado tarde para poder contrarrestar rápidamente el ataque de *R. ferrugineus*. La realidad es que estos compuestos y los implicados en la síntesis de activación, podrían resultar en una valiosa herramienta para detectar los inicios de actividad alimenticia y/o de oviposición del picudo rojo. Si estos compuestos se pudieran detectar inequívocamente a los inicios de la infestación, permitiría una gestión de la plaga mucho más eficaz. Por lo tanto, el principal objetivo del presente estudio fue caracterizar la respuesta metabólica de *P. canariensis* frente a daños provocados por *R. ferrugineus* y daños mecánicos (poda) comparadas con palmeras completamente sanas e intactas, con el objetivo final de poder identificar posibles biomarcadores para la detección precoz de *R. ferrugineus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron palmeras comerciales, no tratadas químicamente, de unos 7 años de edad, plantadas en macetas de 150 litros las cuales se regaron cada 3 días. El estípite de las palmeras medía alrededor de 40 cm de alto y 35 cm de ancho. Estas palmeras se distribuyeron, en grupos de cuatro, en nueve jaulas separadas (36 palmeras en total) dentro de un invernadero de doble malla de seguridad, 2 meses antes del inicio del ensayo. Este tiempo se fijó para asegurar que cualquier posible infestación anterior se detectaría previamente y

que el movimiento de las palmeras no provocara ninguna respuesta vegetal.

Colonia de insectos

Los adultos utilizados en este estudio para infestar directamente las palmeras, se recolectaron en la provincia de Valencia mediante trampas cebadas con ferrugineol (feromona de agregación de *R. ferrugineus*), acetato de etilo y trozos de palmas.

Infestación

Se infestaron las palmeras de 6 jaulas al inicio del ensayo (día 0) liberando cuatro adultos de picudo (tres hembras y un macho) por palmera, que permanecieron durante una semana. Las tres jaulas restantes constituyeron el grupo control. En el día 0, se muestrearon diferentes partes de la palma pertenecientes a las 12 palmeras control mediante tijeras de podar. Se muestreó un total de 100 g por palmera (tiempo 0). Asimismo, se realizó un segundo muestreo de las palmas siete días más tarde (palmeras dañadas mecánicamente a los 7 días). Ese mismo día, se realizó el mismo muestreo a las 12 palmeras infestadas de las tres jaulas donde se liberaron los adultos de *R. ferrugineus* (es decir, 7 días después de la infestación, di). Una semana más tarde, del mismo modo se muestrearon las nueve palmeras restantes infestadas con *R. ferrugineus* de las restantes tres jaulas (14 di). En este punto, se diseccionaron todas las palmeras para evaluar su nivel de infestación. En todos los casos, las muestras de palmas se congelaron inmediatamente después del muestreo a -80°C para su posterior procesamiento.

Procesamiento de muestras

Las muestras congeladas se trituraron inicialmente utilizando a una trituradora refrigerada y posteriormente se liofilizó. A continuación, se añadió una mezcla estandarizada de d6ABA, d4SA,

d6IAA y dhJA a 100 mg kg^{-1} a cada muestra. El tejido seco (0,05 g) se homogeneizó a un polvo fino. Posteriormente se añadió 2 ml de solución de extracción (90: 10 de $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ que contenía 0,01% de HCOOH) a 50 mg de las muestras secas congeladas. Después de la homogeneización con hielo realizada con el polytron, las muestras se centrifugaron durante 35 min a $4.000 \times g$ a 4°C y el sobrenadante se recuperó y se ajustó a un pH 2,8 con ácido acético (6%) y posteriormente repartido dos veces con un volumen igual de éter dietílico y a continuación se centrifugó durante 3 min a $4.000 \times g$. En ese momento, se combinaron las fases orgánicas y se evaporó utilizando una Speed-Vac (Eppendorf®) a temperatura ambiente.

El residuo sólido se resuspendió en 1 ml de una solución de metanol/agua (10:90, vol:vol) y pasado por un filtro de acetato de celulosa de 0,22- μm (13 mm pk/100 TR-200430; Olimpeak Teknokroma, Barcelona, España). A continuación, se inyectó directamente una alícuota de 20 μl de la solución en el sistema HPLC. Los análisis se realizaron utilizando un sistema HPLC Waters Alliance 2690 (Waters®) con una columna de fase reversa Kromasil (100 2 diámetro interno; 5 μm ; Scharlab®). El sistema cromatográfico se conectó con un espectrómetro de masas (Micromass®) con Quatro LC (hexapolar-quadrupole-quadrupole). Para procesar los datos cuantitativos de estándares de calibración y las muestras de las palmeras, se utilizó la versión 4.1 MASSLYNX NT (Micromass®). Las curvas de calibración se obtuvieron siguiendo el protocolo de Flors *et al* (2008) y Durgbanshi *et al* (2005).

Análisis estadísticos

Las hormonas y las concentraciones de metabolito secundario en el control (tiempo 0) y 7 días correspondientes a las palmeras dañadas mecánicamente, se compararon usando una prueba

dependiente de t para muestras emparejadas. Por lo tanto, ambos tratamientos se compararon individualmente a los 7 y 14 di utilizando una ANOVA de 1 vía. Cuando fue necesario, se realizó una prueba post-hoc de Tukey para separar las medias. En el caso del JA-isoleucina (Ile-JA), cuyo compuesto permaneció indetectable en las palmeras control, se compararon las concentraciones en palmeras infestadas mediante una prueba de t .

RESULTADOS

No se encontraron diferencias para las distintas concentraciones de SA, ácido indol-3-acético (IAA), ácido caféico, ferúlico, clorogénico y ácido cinámico entre el control y palmeras dañadas mecánicamente (Tablas 1 y 2). Sin embargo, cuando se compararon con las concentraciones medias de ambos tratamientos frente a las palmeras infestadas, se observaron diferencias significativas en todos los casos excepto con el ácido clorogénico (Tablas 1 y 2). Ácido cinámico llegó a ser imperceptible ($<5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/l}$) en las palmeras infestadas. Por el contrario, la concentración de ácido caféico aumentó más de 10 veces en las palmeras infestadas durante el tiempo del ensayo considerado (14 días).

El SA también aumentó en las palmeras infestadas, obteniendo diferencias significativas en las diferentes fechas de muestreo, con un aumento de este compuesto de 5 y 8 veces superior a las palmeras control, a los 7 y 14 di, respectivamente. Las concentraciones de IAA y ácido ferúlico aumentaron a los 7 di, pero disminuyeron siete días más tarde. En el caso del ácido ferúlico, las diferencias entre palmeras dañadas mecánicamente y las infestadas desapareció a los 14 di.

El ácido abscísico (ABA) y las concentraciones de ABA-glucósido (ABA Glu) fueron superiores en las palmeras dañadas

mecánicamente respecto a las palmeras control (Tablas 1 y 2). Estas concentraciones fueron incluso mayores en las palmeras infestadas con *R. ferrugineus* (aproximadamente 3 veces) y no se observó ninguna diferencia a los 7 y 14 di. Por el contrario, el 2-O- β -D-glucosilsalicílico (SAG) y el ácido Jasmónico (JA) fueron superiores en las palmeras control respecto a las palmeras dañadas mecánicamente y sus concentraciones fueron incluso superiores en las palmeras infestadas, especialmente el SAG, que presentó unas concentraciones 20 veces superiores a los 14 di respecto a las palmeras control.

Por último, el JA-Ile, la forma activa del JA no perceptible en las palmeras control, se pudo detectar tanto en las palmeras dañadas mecánicamente como en las infestadas, especialmente a los 14 di. Las palmeras utilizadas en los ensayos, contenían una media de $12,08 \pm 0,80$ y $11,17 \pm 0,54$ (máximo 16 y mínimo 8) larvas por palmera, respectivamente. Como era de esperar, no se hallaron larvas en el interior de las palmeras control.

DISCUSIÓN

Como se esperaba, las vías hormonales de defensa de la palmera canaria, *P. canariensis*, se activaron de manera diferente en las palmeras infestadas y en las dañadas mecánicamente (poda). Siete días después de los daños mecánicos, las palmeras mostraron un aumento de las concentraciones de compuestos relacionados con las oxilipinas y las vías defensivas del ABA. Se sabe que estas dos vías pueden causar interferencias y generalmente antagoniza la aparición del sistema defensivo del SA (Flors *et al.*, 2008; Glazebrook, 2005; Del Pozo *et al.*, 2005; Pieterse *et al.*, 2009). De hecho, la cantidad de SA no fluctuó en las palmeras dañadas mecánicamente respecto a los controles, incluso los valores del SAG disminuyeron en dichas palmeras. Las vías del ABA y el JA se han asociado tradicionalmente

a una respuesta defensiva frente a las heridas provocadas en las plantas (Robert Seilaniantz *et al.*, 2011), pero también está relacionado cuando un insecto entra en contacto con su aparato bucal (Erb *et al.*, 2012), como podría ser el caso de *R. ferrugineus*. Por lo tanto, no es

sorprendente que 14 días después de la infestación, las palmeras infestadas muestren también mayores niveles de sustancias relacionadas con las vías de las oxilipinas y del ABA. Sin embargo, en este caso no se observó la supuesta interferencia del JA con las

vías de respuesta defensiva del SA (Thaler *et al.*, 2012) que estableció en su momento Giovino *et al.*, (2015) en palmeras *P. canariensis* con altos niveles de infestación. De hecho, en nuestros ensayos, las palmeras infestadas mostraron altos niveles de SA y SAG en comparación

Tabla 1. Concentraciones (promedio \pm SE, ng/mg DW) de diferentes hormonas vegetales y metabolitos secundarios en el control (C, tiempo 0), dañadas mecánicamente (DM: control 7 días después de la poda de palmeras) y palmeras infestadas con *R. ferrugineus* (RPW) a los 7 y 14 días después de la infestación (7 di RPW y 14 di RPW, respectivamente).

	C	DM	C versus DM	7 di RPW	14 di RPW	RPW versus	
						C	DM
SA	385,02 \pm 79,06	297,30 \pm 48,43	C = MI	1608,91 \pm 167,94	2471,83 \pm 462,72	C < 7 = 14 di	MI < 7 = 14 di
IAA	166,22 \pm 27,93	272,15 \pm 77,99	C = MI	2308,98 \pm 238,60	1115,14 \pm 175,72	C < 14 < 7 di	MI < 14 < 7 di
CA (μ g/ g DW)	100,61 \pm 33,84	74,53 \pm 17,31	C = MI	1009,70 \pm 281,06	1016,34 \pm 1917,01	C < 7 = 14 di	MI < 7 = 14 di
FA (μ g/ g DW)	3,64 \pm 1,00	7,44 \pm 1,73	C = MI	16,09 \pm 2,05	9,40 \pm 1,02	C < 14 < 7 di	MI = 14 < 7 di
ChA	229,28 \pm 111,69	221,48 \pm 213,28	C = MI	464,05 \pm 237,15	251,82 \pm 263,26	C = 7 = 14 di	MI = 7 = 14 di
Ci (μ g/ g DW)	1,66 \pm 0,58	1,98 \pm 0,47	C = MI	UD	UD	C > 7 = 14 di	MI > 7 = 14 di
ABA	221,92 \pm 57,56	334,61 \pm 52,41	C < MI	927,22 \pm 132,93	984,36 \pm 112,10	C < 7 = 14 di	MI < 7 = 14 di
ABAGlu	225,41 \pm 57,87	314,14 \pm 53,31	C < MI	992,63 \pm 123,53	1048,06 \pm 106,38	C < 7 = 14 di	MI < 7 = 14 di
SAG	297,33 \pm 80,49	79,23 \pm 36,91	C > MI	1883,00 \pm 312,80	6008,52 \pm 898,98	C = 7 > 14 di	MI = 7 > 14 di
JA	296,81 \pm 90,04	80,58 \pm 8,52	C > MI	1047,10 \pm 326,27	717,18 \pm 113,37	C \leq 14 \leq 7 di	MI \leq 14 \leq 7 di
JA-Ile	UD	1571,14 \pm 363,94	C < MI	9,66 \pm 6,84	1576,02 \pm 363,21	7 < 14 di*	MI = 14 > 7 di

SA: Ácido Salicílico; IAA: Ácido Indole-3-acético; CA: Ácido Caféico; FA: Ácido Ferúlico; ChA: Ácido Clorogénico; CiA: Ácido Cinámico Aid; ABA: Ácido Abscísico; ABAGlu: Glucósido de ABA; SAG: SA O-glucósido; JA: Ácido Jasmónico; JA-Ile: JA-isoleucina; ND: no detectable; NA no aplicable.

*Las medias se compararon usando una t-test (gl= 11)

Tabla 2. Resultados del ANOVA de 1 vía (gl = 2, 35 en todos los casos se utilizó para comparar las concentraciones de diferentes fitohormonas en los controles (C) y las palmeras dañadas mecánicamente, 7 días después de la poda (DM) frente a los 7 y 14 di con *R. ferrugineus* (7 di RPW y 14 di RPW, respectivamente) (véase Tabla 1). Los valores de C y DM se compararon con un t-test dependiente para muestras emparejadas (gl= 11 en todos los casos) y cada uno de estos valores se compararon posteriormente con las muestras obtenidas a los 7 y 14 di RPW con 1 vía, ver Tabla 2)

	C comparadas con MI	RPW-injured palms compared (F; P) with	
	(t; P)	C	DM
SA	1,082; 0,302	14,44; <0,001	16,02; <0,001
IAA	-1,278; 0,227	42,56; <0,001	36,3; <0,001
CA	0,671; 0,516	7,76; 0,002	8,28; 0,001
FA	-1,984; 0,073	20,12; <0,001	7,91; 0,002
ChA	0,030; 0,976	0,29; 0,7501	0,25; 0,7803
Ci	-0,400; 0,697	NA	NA
ABA	-3,819; 0,003	17,59; <0,001	12,84; <0,001
ABAGlu	-2,857; 0,016	23,12; <0,001	18,58; <0,001
SAG	2,515; 0,029	31,18; <0,001	33,32; <0,001
JA	2,349; 0,039	3,59; 0,039	6,62; 0,004
JA-Ile	NA	20,28; <0,001 *	10,12; <0,001

SA: Ácido Salicílico; IAA: Ácido Indole-3-acético; CA: Ácido Caféico; FA: Ácido Ferúlico; ChA: Ácido Clorogénico; CiA: Ácido Cinámico Aid; ABA: Ácido Abscísico; ABAGlu: Glucósido de ABA; SAG: SA O-glucósido; JA: Ácido Jasmónico; JA-Ile: JA-isoleucina; ND: no detectable; NA no aplicable.

*Las medias se compararon usando una t-test (gl= 11)

con las palmeras control y las dañadas mecánicamente. Si estas diferencias en los resultados obtenidos son debidas a la edad de las palmeras o a los niveles de infestación (15-20 años y desconocido, respectivamente, de las palmeras utilizadas por Giovino *et al.*, 2015), sería necesario realizar más estudios para esclarecer esta cuestión.

Curiosamente, se sabe que existen casos relacionados con otros herbívoros donde hay una aparente desregulación de la interferencia negativa del SA-JA como la que ocurre en la interacción de *P. canariensis* con *R. ferrugineus* (Kant *et al.*, 2004; Kawazu *et al.*, 2012; Agut *et al.*, 2014). Además, se observó un aumento de auxinas y especialmente de compuestos fenólicos, como precursores de fitoalexinas fenilpropanoides en las palmeras infestadas, mientras que en las palmeras dañadas mecánicamente no aparecieron. Estos resultados concuerdan con los trabajos de Giovino *et al.*, (2015), quienes documentaron la activación de los genes de biosíntesis de fenilalanina y del metabolismo de la fenilpropanodiona en *P. canariensis* durante la etapa media de infestación. Los compuestos fenólicos son conocidos por poseer propiedades insecticidas (Lattanzio *et al.*, 2006) que participan en la formación de barreras físicas como componentes de la lignina y la reducción de la palatabilidad de la planta (Lattanzio *et al.* 2006, Burghardt *et al.*, 2001). Nuestros resultados, demuestran que estas sustancias se pueden detectar, al menos, 7 días después de la infestación, lo que demuestra que *P. canariensis* activa respuestas de defensa contra *R. ferrugineus* justo después de los daños ocasionados por la oviposición y primera fase de alimentación, mucho antes de lo indicado por Giovino *et al.* (2015). Según esos autores, la respuesta defensiva de *P. canariensis* contra *R. ferrugineus* no puede contrarrestar el ataque, sin embargo, esta respuesta puede

ofrecer una señal única para detectar las primeras fases de infestación. Debido a que los cambios observados aparecieron justo después de la exposición a las hembras, las sustancias como el ácido caféico y el JA se podrían considerar como señales de advertencia frente a una infestación reciente de *R. ferrugineus*, que proporcionaría una herramienta extremadamente útil para el manejo de esta plaga tan letal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a C. Llopis (UJI) por su colaboración durante los ensayos. Esta investigación se ha financiado parcialmente por el proyecto europeo FP7 (proyecto KBBE.2011.1.2-12) y la Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació de la Comunitat Valenciana (proyecto de IVIA-5611).

BIBLIOGRAFÍA

- Agut B., Gamir J., Jacas J.A., Hurtado M.A., Flors V. 2014. Different metabolic and genetic responses in citrus may explain relative susceptibility to *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 70: 1728-1741.
- Bennett R.N., Wallsgrove R.M. 1994. Tansley Review No. 72. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127: 617-633.
- Burghardt F., Proksch P., Fiedler K., 2001. Flavonoid sequestration by the common blue butterfly *Polyommatus icarus*: quantitative intraspecific variation in relation to larval host plant, sex and body size. *Biochemical Systematic Ecology*, 29: 875-889.
- Cangelosi B., Clematis F, Monroy F., Roversi P.F., Troiano R., Curir P., Lanzotti V. 2015. Filiferol, a chalconoid analogue from *Washingtonia filifera* possibly involved in the defence against the Red Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier. *Phytochemistry*, 115: 216-21.
- Chen H., Gonzales-Vigil E., Wilkerson C., Howe G.A. 2007. Stability of plant defense proteins in the gut of insect herbivores. *Plant Physiology*, 143:1954-1967.
- EPPO. 2008. Data sheets on quarantine pests *Rhynchophorus ferrugineus*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. EPPO Bulletin, 38: 55-59.
- EPPO. 2009. First record of *Rhynchophorus ferrugineus* in Curaçao, Netherlands Antilles. European and Mediterranean Plant Protection Organization Reporting Service. Pests & Diseases. 2009/002. <http://archives.eppo.org/EPPOReporting/2009/Rse-0901.pdf>
- Del Pozo J.C., López-Matas M., Ramírez-Parra E., Gutiérrez C. 2005. Hormonal control of the plant cell cycle. *Physiologia Plantarum*, 123: 173-183.
- Dembilio Ó., Jacas, J.A. 2011. Basic bio-ecological parameters of the invasive Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae), in *Phoenix canariensis* under Mediterranean climate. *Bulletin of Entomological Research*, 101: 153-163.
- Dembilio Ó., Jacas J.A., Liácer E., 2009. Are the palms *Washingtonia filifera* and *Chamaerops humilis* suitable hosts for the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Col. Curculionidae)? *Journal of Applied Entomology*, 133: 565-567.
- Dembilio Ó. & Jaques J.A. 2015. Biology and Management of Red Palm Weevil. In: Sustainable Pest Management in Date Palm: Current Status and Emerging Challenges; Wakil W, Faleiro JR, Miller TA (eds.). pp 13-36. Springer International Publishing, Switzerland.
- Dembilio Ó., Riba J.M, Gamón M., Jacas J.A. 2014. Mobility and efficacy of abamectin and imidacloprid against *Rhynchophorus ferrugineus* in *Phoenix canariensis* by different application methods. *Pest Management Science*, 71: 1091-1098.
- Durgbanshi A., Arbona V., Pozo O.J., Miersch O., Sancho J.V., Gómez-Cadenas A. 2005. Simultaneous Determination of Multiple Phytohormones in Plant Extracts by Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22: 8437-8442.
- Erb M., Meldau S., Howe G.A. 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends Plant Science*, 17: 250-259.

Flors V., Ton J., Jakab G., Mauch-Mani B. 2005. Abscisis acid and callose: team layers in defence against pathogens? *Journal of Phytopathology*, 153: 377-383.

Flors V., Ton J., Van Doorn R., Jakab G., García-Agustín P., Mauch-Mani B. 2008. Interplay between JA, SA and ABA signalling during basal and induced resistance against *Pseudomonas syringae* and *Alternaria brassicicola*. *Plant Journal*, 54: 81-92.

Giovino A., Bertolini E., Fileccia V., Al Hassan M., Labra M., Martinelli F. 2015. Transcriptome analysis of *Phoenix canariensis* Chabaud in response to *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier attacks. *Front Plant Science*, 6: 817 DOI: 10.3389/fpls.2015.00817.

Glazebrook J. 1999. Genes controlling expression of defense responses in Arabidopsis. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 280-286.

Jaques J.A., Riolo P., Audsley N., Barroso J.M., Dembilio O., Isidoro N., Minuz R.L., Nardi S., Navarro V., Beaudoin-Ollivier L., Quesada Moraga E. 2017. Control measures against *Rhynchophorus ferrugineus*

and *Paysandisia archon* In: Handbook of Major Palm Pests: Biology and Management; Soroker, V., Colazza (eds), pp 255-280. Wiley-Blackwell, U.K.

Kant M.R., Ament K., Sabelis M.W., Haring M.A., Schuurink R.C. 2004. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. *Plant Physiology*, 135: 483-495.

Kawazu K., Mochizuki A., Sato Y., Sugeno W., Murata M., Seo S., Mitsuhashi I. 2012. Different expression profiles of jasmonic acid and salicylic acid inducible genes in the tomato plant against herbivores with various feeding modes. *Arthropod-Plant Interaction*, 6: 221-230.

Lattanzio V., Lattanzio V.M., Cardinali A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry Advanced Research*, 661: 23-67.

Pieterse C.M., Leon-Reyes A., Van der Ent S., Van Wees S.C. 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chem Biol*, 5: 308-316.

Rasool K.G., Khan M.A., Aldawood A.S., Tufail M., Mukhtar M., Takeda M. 2015. Identification of proteins modulated in the date palm stem infested with red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.) using two dimensional differential gel electrophoresis and mass spectrometry. *International Journal of Molecular Sciences*, 16:19326-19346.

Robert-Seilaniantz A., Grant M., Jones J.D. 2011. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just jasmonate-salicylate antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 317-343.

Rugman-Jones P.F., Hoddle C., Hoddle M., Stouthamer R. 2013. The lesser of two weevils: molecular-genetics of pest palm weevil populations confirm *Rhynchophorus vulneratus* (Panzer 1798) as a valid species distinct from *R. ferrugineus* (Olivier 1790), and reveal the global extent of both. *PLoS ONE*, 8: 1-15.

Thaler J.S., Humphrey P.T., Whiteman N.K. 2012. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends Plant Science*, 17: 260-270.

Cajamar y Signify firman un acuerdo para investigar el crecimiento de cultivos agrícolas con iluminación artificial

La Fundación Cajamar y Signify (Euronext: LIGHT), líder mundial en iluminación, han firmado un convenio para investigar el crecimiento de los cultivos en invernaderos aplicando iluminación artificial. Este estudio se llevará a cabo en un invernadero ubicado en la Estación Experimental de Cajamar en "Las Palmerillas", al que Signify dotará de iluminación artificial. Un proyecto de gran interés para las explotaciones agrícolas, que en el futuro deberán hacer frente a una mayor demanda de producción de alimentos en condiciones más exigentes, consecuencia del cambio climático, el crecimiento de la población y la escasez de recursos en el planeta.

Para el director de Innovación Agroalimentaria de Cajamar, Roberto García Torrente, los resultados de esta investigación tendrán un gran interés para los agricultores, "ya que supondrá una nueva fórmula de producir más y mejor, optimizando los recursos y ahondando en el desarrollo sostenible". Asimismo, ha destacado que este convenio se enmarca en las iniciativas que promueve Cajamar en favor de la sostenibilidad económica, social y ambiental del sector agroalimentario, "que llevamos a cabo en contacto permanente con todos los agentes de la cadena de valor, fomentando la incorporación de tecnología, la capacitación profesional y las prácticas sostenibles".

"Uno de los grandes retos que nos encontraremos en los próximos años pasa por la creciente demanda de alimentos para abastecer a una población en aumento. Paralelamente, las consecuencias que conlleva el cambio climático podrían alterar las condiciones de cultivo actual" ha comentado Josep

M. Martínez, presidente y director general de Signify en España y Portugal. "Es crucial buscar los socios adecuados, como la Fundación Cajamar, para investigar nuevos modelos de cultivo, que permitan un control sobre la producción de alimentos a la vez que optimice los recursos necesarios, como agua, espacio o iluminación."

El proyecto piloto que se desarrollará en la Estación Experimental de Cajamar en el paraje de Las Palmerillas (El Ejido) consistirá en la instalación de 96 proyectores Philips GreenPower LED en 120 metros de líneas de cultivo al objeto de investigar los efectos que tendrá la iluminación artificial en el crecimiento y la producción de los cultivos hortícolas.

